

ВЛИЯНИЕ ЭФФЕКТОРОВ 1,4-БЕНЗОХИНОНА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ, КОЭНЗИМОВ Q1 И Q10, НА АКТИВНОСТЬ L-ГАЛАКТОН-1,4-ЛАКТОН ДЕГИДРОГЕНАЗЫ ИЗ *Arabidopsis thaliana*

© 2022 г. А. А. Чудин¹, *, Е. В. Кудряшова¹

¹Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

*e-mail: andrew_18@inbox.ru

Поступила в редакцию 20.06.2022 г.

После доработки 21.06.2022 г.

Принята к публикации 06.07.2022 г.

Охарактеризовано влияние 1,4-бензохинона и его производных, коэнзимов Q1 и Q10, на мембранотропный фермент L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana*. Установлено, что коэнзим Q1 может выступать как электроноакцептор L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназы в водной среде и в системе обращённых мицелл (модель мембраны). Учитывая значительную разницу коэффициентов молярного поглощения окисленной и восстановленной форм 1,4-бензохинона и коэнзима Q1, данные соединения могут быть использованы для разработки спектрофотометрического определения активности L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana*. Используя ранее разработанный подход к определению активности фермента в мицеллярной среде показано, что коэнзим Q10, близкий по структуре к электроноакцептору 1,4-бензохинону и коэнзиму Q1, напротив, является ингибитором изучаемого фермента. Обнаруженная способность коэнзима Q10 ингибировать галактон-1,4-лактон дегидрогеназу из *Arabidopsis thaliana*, являющуюся гомологом галактонолактонооксидазы из болезнетворного организма-паразита *Trypanosoma cruzi*, позволяет рассматривать коэнзим Q10 как потенциальный ингибитор галактонолактонооксидазы и возможную основу для создания лекарств против болезни Шагаса.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназа, 1,4-бензохинон, коэнзим Q1, коэнзим Q10, электроноакцепторы, ингибиторы

DOI: 10.56304/S0234275822040068

ФАД-зависимая L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназа из *Arabidopsis thaliana* (AtGALDH) – мембранный фермент растительного происхождения, являющийся удобной моделью для изучения действия эффекторов в отношении митохондриальных ФАД-зависимых дегидрогеназ. AtGALDH может служить модельным ферментом для поиска ингибиторов водонерастворимой галактонолактонооксидазы из *Trypanosoma cruzi* (TcGAL), вызывающей болезнь Шагаса. Фермент TcGAL катализирует биосинтез аскорбата С – антиоксиданта, который паразитический организм *Trypanosoma cruzi* не может усваивать извне и должен синтезировать самостоятельно. Ингибиторы TcGAL,

могут рассматриваться как основа для разработки селективных лекарств против болезни Шагаса, поскольку организм человека не содержит галактонолактонооксидазу.

Еще одним важным направлением является исследование новых электроноакцепторов (ЭА) AtGALDH, обладающих значительной разницей коэффициентов молярного поглощения окисленной и восстановленной форм, что позволяет разрабатывать новые спектрофотометрические методы определения активности фермента, например, с использованием 1,4-бензохинона (BQ) [2]. Коэнзимы Q1 и Q10 (CoQ1 и CoQ10) представляют собой аналоги 1,4-бензохинона, содержащие одно и десять изопреновых звеньев соответственно, являются переносчиками электронов в дыхательной цепи и играют важную роль в окислительном фосфорилировании в митохондриях. Кроме того, эти коэнзимы могут выступать как поглотители свободных радикалов, таким образом предотвращая окислительное повреждение митохондриальных мембран. Мембраны млекопитающих обычно со-

Список сокращений: АОТ – натриевая соль ди-2-этилгексилового эфира сульфоянтарной кислоты; AtGALDH – L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназа из *Arabidopsis thaliana*; BQ – 1,4-бензохинон; CoQ1 – коэнзим Q1; CoQ10 – коэнзим Q10; GL – L-галактон-1,4-лактон; PBS – фосфатный буфер; TcGAL – галактонолактонооксидаза из *Trypanosoma cruzi*; ЭА – электроноакцептор; PMS – феназинметосульфат; DCPIP – 2,6-дихлорфенолиндофенол.

держат гомологи CoQn с длинными изопреновыми цепями: у людей это Q10, у грызунов это в основном Q9. У бактерий, например, *E. coli*, присутствует коэнзим Q8. Изопреновая цепь делает Q10 чрезвычайно гидрофобным, удерживая его в мембране и исключая любую возможность его диссоциации в митохондриальный матрикс, в то время как Q1 с одним изопреновым звеном является сравнительно гидрофильным соединением.

В шестичленном кольце CoQ1, в отличие от BQ, все атомы водорода замещены на алкильные или метокси-группы, поэтому CoQ1 более устойчив в щелочной среде [4], что, предположительно, должно способствовать его большей эффективности в качестве электроноакцептора AtGALDH. Коэнзим, CoQ10, благодаря длинному гидрофобному углеводородному фрагменту способен проникать в клеточные мембраны. Как следствие, CoQ10 практически нерастворим в воде, однако хорошо растворим в системе АОТ-вода-н-октан (обращенные мицеллы), являющейся моделью мембраны, поэтому этот кофермент также представляет интерес как эффектор AtGALDH.

Таким образом, целью данной работы является исследование 1,4-бензохинона и его производных коэнзимов Q1 и Q10 в отношении L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназы из *Arabidopsis thaliana* в качестве потенциальных электроноакцепторов или ингибиторов фермента в водной и мицеллярной средах.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Реагенты

L-галактоно-1,4-лактон, 2,6-дихлорофенолидофенол, натриевая соль ди-2-этилгексилового эфира сульфоянтарной кислоты (АОТ), н-октан, ацетонитрил, компоненты буферных растворов – препараты (Sigma-Aldrich, США), феназинметасульфат и 1,4-бензохин (Merck, Германия), коэнзим Q1 (Sigma), коэнзим Q10 (Nanjing Duly Biotech, Китай), L-галактон-1,4-лактон дегидрогеназа из *Arabidopsis thaliana* была любезно предоставлена проф. W.J.H. van Berkel (Вагенингенский университет, Вагенинген, Нидерланды).

Методы

Регистрацию спектров окисленных и восстановленных форм изучаемых соединений и определение активности фермента AtGALDH с использованием электроноакцепторов проводили на спектрофотометре Ultrospec-2100 pro Amersham Biosciences (США) с термостатируемым кюветным отделением (все измерения проводились при 25°C). В качестве водной и мицеллярной сред во всех экспериментах использовали 25 мМ PBS (с разными рН в диапазоне рН 7.2–9.6) и 0.1 М

АОТ в н-октане (с добавлением необходимого количества PBS с заданным рН для достижения нужной степени гидратации W_0) соответственно.

Изучение влияния CoQ10 на активность AtGALDH в системе обращенных мицелл АОТ проводили по методике, описанной в работе [1], где использовали комбинацию 120 мкМ феназинметосульфата и 120 мкМ 2,6-дихлорофенолидофенола в системе обращенных мицелл 0,1 М АОТ в н-октане, варьируя степень гидратации W_0 .

Концентрации L-галактоно-1,4-лактона и AtGALDH составляли 1 мМ и 6×10^{-9} М во всех экспериментах. Регистрацию и обработку данных проводили при помощи программы “Datalyse 3.70”. Для статистической обработки данных использовали программу SigmaPlot 11.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование свойств 1,4-бензохинона в качестве электроноакцептора AtGALDH

Для установления оптимальных условий использования BQ как электроноакцептора AtGALDH исследовали зависимости скоростей основной (в присутствии AtGALDH) и фоновой (без AtGALDH) реакции от рН вблизи рН-оптимума фермента (рН 8.8) в диапазоне рН 7.2–9.6 в водной и мицеллярной средах. Скорости реакций определяли по изменению поглощения раствора на длине волны $\lambda = 290$ нм (разница коэффициентов молярного поглощения окисленной и восстановленной форм 1,4-бензохинона $\epsilon_{290} = 2300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ для обеих сред [2, 3]). Полученные зависимости представлены на рис. 1.

Установлено, что рН 7.8 является оптимальным для использования BQ в качестве электроноакцептора AtGALDH как в водной, так и в мицеллярной средах. При повышении рН наблюдается резкое снижение отношения скоростей основной и фоновой реакций в обеих средах, вплоть до превалирования фоновой реакции над основной при рН 9.6. Эти результаты согласуются с данными, полученными в работе [3], авторы которой связывают ухудшение свойств BQ с его авто-окислением при щелочных значениях рН. При этом авторы [3] использовали данный ЭА при рН 7.2, в то время как полученные нами рН-зависимости свидетельствуют о возможности использования BQ при рН 7.8, что соответствует более близким к оптимальным условиям функционирования AtGALDH. Дальнейшая оптимизация по использованию 1,4-бензохинона как электроноакцептора AtGALDH состояла в исследовании зависимости эффективности ЭА от его концентрации при рН-оптимуме ЭА (рис. 2).

Полученные зависимости свидетельствуют о том, что концентрация BQ 2 мМ в водной и мицеллярной среде является оптимальной ввиду

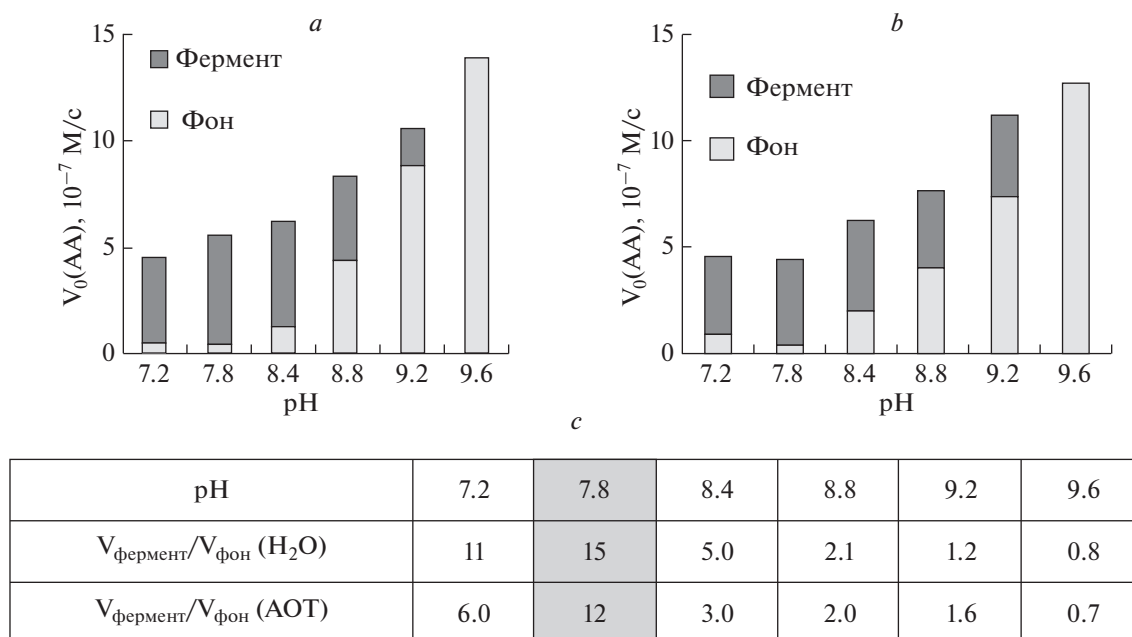


Рис. 1. Скорости побочной (Фон) и ферментативной (Фермент.) реакций при варьировании pH (a) – в водной среде, (b) – мицеллярной (0.1 М АОТ в n-октане, $W_0 = 22$), (c) – соотношение скоростей в исследованных средах. Условия: 1 мМ GL, 0.2 мМ BQ, 6×10^{-9} М AtGALDH, $\lambda = 290$ нм, $T = 25^\circ\text{C}$.

Fig. 1. The rates of the side (Background) and enzymatic (Enzymatic) reactions with varying pH (a) – in aqueous media (0.1 М АОТ in n-octane, $W_0 = 22$) (c) – the ratio of rates in examined media. Conditions: 1 mM GL, 0.2 mM BQ, 6×10^{-9} M AtGALDH, $\lambda = 290$ nm, $T = 25^\circ\text{C}$.

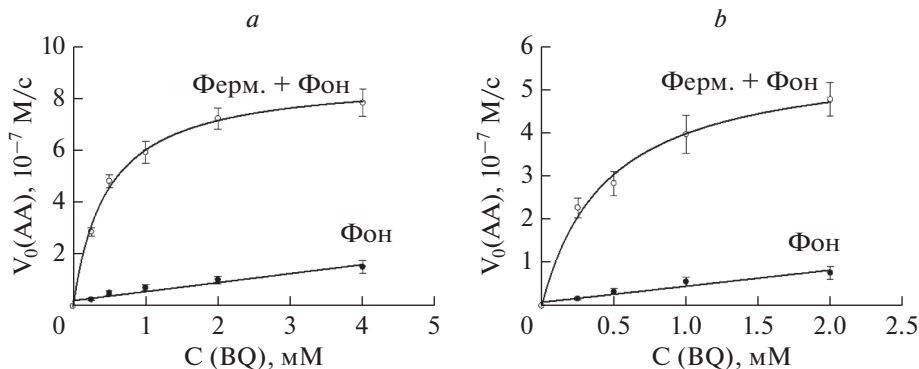


Рис. 2. Сравнение скоростей ферментативной и фоновой реакции в зависимости от концентрации BQ (a) – в водной (25 мМ PBS pH 7.8) (b) – в мицеллярной среде (0.1 М АОТ в n-октане, $W_0 = 22$, pH 7.8). Условия: 1 мМ GL, 6×10^{-9} М AtGALDH, $T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 290$ нм.

Fig. 2. Comparison of enzymatic and background reaction rates as a function of BQ concentration (a) – in aqueous (25 mM PBS pH 7.8) (b) – in micellar medium (0.1 М АОТ in n-octane, $W_0 = 22$, pH 7.8). Conditions: 1 mM GL, 6×10^{-9} M AtGALDH, $T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 290$ nm.

наибольшего соотношения скоростей основной и фоновой реакций.

Исследование свойств коэнзимов Q1 и Q10 как эффекторов AtGALDH

Ввиду структурного сходства 1,4-бензохинона и коэнзима Q1 было выдвинуто предположение о возможной способности последнего выступать

в качестве электроноакцептора AtGALDH. Обнаружено, что спектры окисленной и восстановленной форм CoQ1 имеют одинаковый вид в водной и мицеллярной средах, что позволяет спектрофотометрически регистрировать переход из окисленной формы в восстановленную при одной длине волны $\lambda = 285$ нм в обеих средах (рис. 3). В обеих средах разница коэффициентов молярного поглощения окисленной и восстанов-

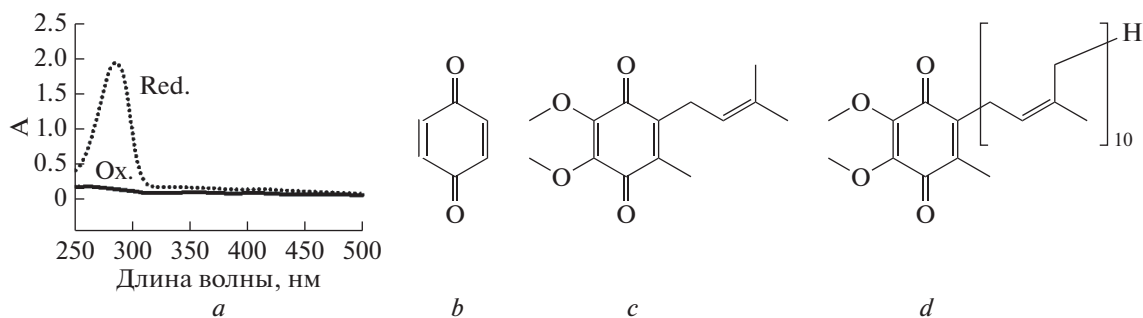


Рис. 3. (a) – Спектры восстановленной (Red.) и окисленной (Ох.) форм CoQ1 в 0.1 М АОТ ($W_0 = 22$, 0.7 мМ Q1, pH 7.8, $T = 25^\circ\text{C}$); структуры (b) – 1,4-бензохинона (c) – коэнзима Q1, (d) – коэнзима Q10.

Fig. 3. (a) – Spectra of reduced (Red.) and oxidized (Ox.) forms of CoQ1 in 0.1 M AOT ($W_0 = 22$, 0.7 mM Q1, 25 mM PBS, pH 7.8, $T = 25^\circ\text{C}$); the structures (b) – of 1,4-benzoquinone, (c) – of coenzyme Q1, and (d) – of coenzyme Q10.

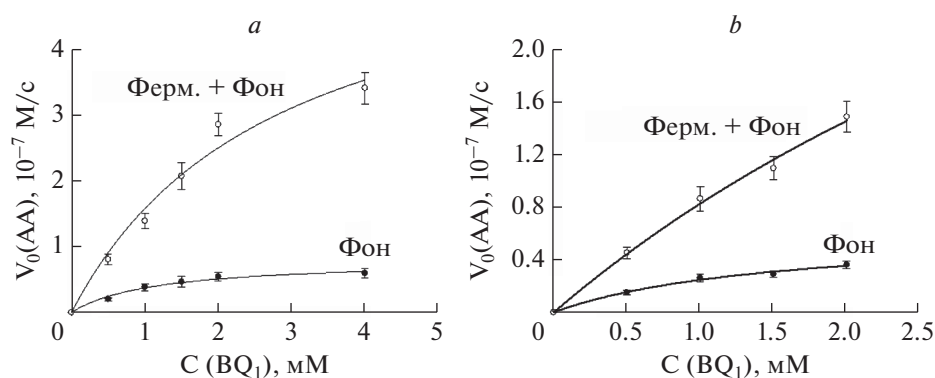


Рис. 4. Сравнение скорости ферментативной и фоновой реакции в зависимости от концентрации CoQ1. (a) – в водной (25 мМ PBS pH 7.8), (b) – в мицеллярной среде (0.1 М АОТ в н-октане, $W_0 = 22$, pH 7.8). Условия: 1 мМ GL, 6×10^{-9} М AtGALDH, $T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 285$ нм.

Fig. 4. Comparison of enzymatic and background reaction rates depending on CoQ1 concentration (a) – in aqueous (left, 25 mM PBS pH 7.8), (b) – in micellar medium (0.1 M AOT in n-octane, $W_0 = 22$, pH 7.8). Conditions: 1 mM GL, 6×10^{-9} M AtGALDH, $T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 285$ nm.

ленной форм $\epsilon_{285} = 2600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ близка к таковой для BQ ($\epsilon_{290} = 2300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Учитывая, что CoQ1 является производным 1,4-бензохинона, и, как следствие, также имеет тенденцию к усилению побочных реакций в сильнощелочных средах, мы исследовали зависимости активности AtGALDH от концентрации ЭА при pH 7.8, которое является оптимальным для BQ. Результаты измерений представлены на рис. 4.

Использование CoQ1 в мицеллярной среде лимитировано ограниченной растворимостью ЭА, поэтому его оптимальной концентрацией является 2 мМ. В то же время в водной среде наиболее целесообразно применение 4 мМ коэнзима Q1 ввиду наибольшего соотношения скорости основной и фоновой реакций. В табл. 1. приведены кинетические параметры реакций при использовании 1,4-бензохинона и коэнзима Q1 в качестве электроакцепторов AtGALDH, где $V_{\text{Макс}}$ – максимальная скорость ферментативной реакции за

вычетом фоновой, $V_{\text{Фон}}$ – скорость фоновой реакции.

Исходя из соотношения скоростей основной и фоновой реакций можно сделать вывод, что коэнзим Q1 – более подходящий ЭА для AtGALDH по сравнению с 1,4-бензохиноном (соотношения 10 и 7 соответственно) в водной среде и менее эффективный в мицеллярной (3 и 6 соответственно). При этом остальные параметры данных ЭА (разницы коэффициентов молярного поглощения окисленных и восстановленных форм и каталитические параметры) отличаются незначительно.

Предполагалось, что коэнзим Q10, отличаясь от CoQ1 только наличием фрагмента из девяти изопреновых звеньев, также обладает электроакцепторными свойствами в отношении AtGALDH. Однако, несмотря на значительную разницу коэффициентов молярного поглощения окисленной и восстановленной форм ($\epsilon = 9900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ при $\lambda = 275$ нм), коэнзим Q10 не проявил себя как

Табл. 1. Сравнение характеристик электроакцепторов AtGALDH: 1,4-бензохинона и коэнзима Q1
Table 1. Comparison of characteristics of electron acceptors of AtGALDH: 1,4-benzoquinone and coenzyme Q1

параметр	1,4-бензохинон		параметр	Коэнзим Q1	
	среда			среда	
	водная	мицеллярная ($W_0 = 22$)		водная	мицеллярная ($W_0 = 22$)
K_M (BQ), М	$(3.5 \pm 0.4) \times 10^{-4}$	$(3.6 \pm 0.3) \times 10^{-4}$	$K_M(Q_1)$, М	$(3.5 \pm 1.1) \times 10^{-3}$	*
$V_{\text{Макс}}$, М/с	$(7.1 \pm 0.4) \times 10^{-7}$	$(4.6 \pm 0.7) \times 10^{-7}$	$V_{\text{Макс}}$, М/с	$(5.4 \pm 0.7) \times 10^{-7}$	$(1.1 \pm 0.1) \times 10^{-7}$ *
$V_{\text{Фон}}$, М/с	$(1.0 \pm 0.2) \times 10^{-7}$	$(7.6 \pm 0.9) \times 10^{-8}$	$V_{\text{Фон}}$, М/с	$(5.4 \pm 0.4) \times 10^{-8}$	$(3.6 \pm 0.3) \times 10^{-8}$
$V_{\text{Макс}}/V_{\text{Фон}}$	7	6	$V_{\text{Макс}}/V_{\text{Фон}}$	10	3
pH	7.8	7.8	pH	7.8	7.8
$\epsilon_{(\text{Ox-Red})}$, $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (λ , нм)	2300 (290)	2300 (290)	$\epsilon_{(\text{Ox-Red})}$, $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (λ , нм)	2600 (285)	2600 (285)

электроакцептор AtGALDH ни при pH 7.8 (оптимум для BQ и CoQ1), ни при pH-оптимуме AtGALDH (pH 8.8).

В то же время обнаружено, что CoQ10 выступает как ингибитор AtGALDH в системе обращенных мицелл AOT (рис. 5). Система обращенных мицелл является релевантной моделью мембраны, необходимой для исследований мембранных ферментов, нерастворимых в воде, таких как TcGAL. Варьируя степень гидратации $W_0 = [\text{ПАВ}]/[\text{H}_2\text{O}]$ (в качестве ПАВ в работе используется AOT), можно менять размер мицелл. При соответствии размеров фермента и полости мицелл наблюдаются оптимумы активности, соответствующие функционированию мономерной или димерной формы фермента. Используемый в качестве модели AtGALDH, гомологичный TcGAL, может функционировать в системе обращенных мицелл AOT в мономерной (при $W_0 = 22-24$) и в димерной ($W_0 = 26-28$) формах [1, 3].

Установлено, что CoQ10 оказывает ингибирующий эффект при $W_0 > 26$, то есть в области существования димерной формы фермента, в то время как эффект в отношении мономерной формы AtGALDH ($W_0 = 23-24$) не выражен. Максимальный процент ингибирования (61%) наблюдается при $W_0 = 28$. Для сравнения на рис. 5 приведено действие ликорина – природного алкалоида, который, ингибирует AtGALDH в мицеллярной системе на 10–15% при концентрации ликорина 60 мкМ и на 80% при 800 мкМ [1].

Таким образом, в рамках данной работы установлено, что 1,4-бензохинон как электроакцептор AtGALDH проявляет наибольшую эффективность при pH 7.8, что позволяет использовать данный ЭА в условиях более близких к pH-оптимуму фермента, чем ранее было предложено [3]. Со-

гласно результатам исследования свойств коэнзимов Q1 и Q10 несмотря на их структурное сходство с 1,4-бензохиноном только коэнзим Q1 проявляет электроакцепторные свойства, превосходящие таковые для 1,4-бензохинона в

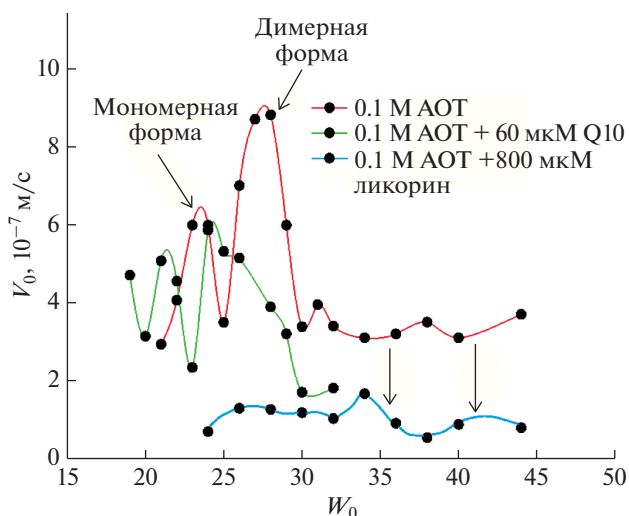


Рис. 5. Зависимости активности AtGALDH от степени гидратации W_0 в системе обращенных мицелл AOT (pH 8.8) в присутствии коэнзима Q10 (60 мкМ) и в его отсутствии, а также в присутствии ликорина (800 мкМ). Максимальная погрешность определения параметров не более 10%. Условия: 1 мМ GL, 120 мкМ PMS, 120 мкМ DCPIP, 6×10^{-9} М AtGALDH, $T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 550$ нм.

Fig. 5. Dependences of the AtGALDH activity on the hydration degree W_0 in the AOT reverse micellar system (pH 8.8) in the presence of coenzyme Q10 (60 μM) and in its absence, as well as in the presence of lycorine (800 μM). Maximum error of parameter determination no more than 10%. Conditions: 1 mM GL, 120 μM PMS, 120 μM DCPIP, 6×10^{-9} M AtGALDH, $T = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 550$ nm.

водной среде и уступающие в мицеллярной. Коэнзим Q10, напротив, не обладает электроноакцепторными свойствами в отношении AtGALDH, однако является ингибитором данного фермента (максимальное ингибирование 61% при 60 мкМ коэнзима Q10). Полученные результаты позволяют заключить, что с помощью коэнзима Q1 можно определять активность AtGALDH в водной и мицеллярной средах, в то время как обнаруженная способность коэнзима Q10 ингибировать AtGALDH, являющуюся гомологом TcGAL, позволяет рассматривать коэнзим Q10 как потенциальный ингибитор TcGAL и, соответственно, возможную основу для создания лекарств против болезни Шагаса.

Работа выполнена с использованием оборудования (ИК-спектрометр Фурье Bruker Tensor 27 (Германия) и КД-спектрометр Jasco J-815 (Япония)) по программе развития МГУ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chudin A.A., Kudryashova E.V. Improved Enzymatic Assay and Inhibition Analysis of Redox Membranotropic Enzymes, AtGALDH and TcGAL, Using a Reversed Micellar System, 2022, *Analytica*, (3)1, 36–53. <https://doi.org/10.3390/analytica3010004>
2. Leferink N.G.H., Van Den Berg W.A.M., Van Berkel W.J.H. L-Galactono- γ -lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*, a flavoprotein involved in vitamin C biosynthesis, 2008, *FEBS J.*, 275(4), 713–726. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06233.x>
3. Kudryashova E.V., Leferink N.G.H., Slot I.G.M., van Berkel W.J.H. Galactonolactone oxidoreductase from *Trypanosoma cruzi* employs a FAD cofactor for the synthesis of vitamin C, 2011, *Biochim. Biophys. Acta – Proteins Proteomics*, 1814(5), 545–552. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2011.03.001>
4. Gulaboski R., Bogeski I., Mirčeski V., Saul S., Pasička B., Haeri H.H., Stefova M., Stanoeva J.P., Mitrev S., Hoth M., Kappl R. Hydroxylated derivatives of dimethoxy-1,4-benzoquinone as redox switchable earth-alkaline metal ligands and radical scavengers. *Sci Rep.*, 2013, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/srep01865>

The Influence of Effectors 1,4-Benzoquinone and its Derivatives, Coenzymes Q1 and Q10, on the Activity of L-Galactone-1,4-lactone Dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*

A. A. Chudin^{a, #} and E. V. Kudryashova^a

^aFaculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

[#]e-mail: andrew_18@inbox.ru

Abstract—The effect of 1,4-benzoquinone and its derivatives, coenzymes Q1 and Q10, on the membranotropic enzyme L-galactone-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* has been characterized. It was established that coenzyme Q1 can act as an electron acceptor for L-galactone-1,4-lactone dehydrogenase in an aqueous medium and in a reverse micellar system (membrane model). Given a significant difference in the molar absorption coefficients of the oxidized and reduced forms of 1,4-benzoquinone and coenzyme Q1, these compounds can be used for spectrophotometric determination of the activity of L-galactone-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*. Using our previously developed approach to the analysis of enzyme activity in a micellar medium, we showed that coenzyme Q10, which is similar in structure to the electron acceptor 1,4-benzoquinone and coenzyme Q1, on the contrary, inhibits the studied enzyme. L-Galactone-1,4-lactone dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana* is a homologue of galactonolactone oxidase from *Trypanosoma cruzi*, a parasitic pathogen, and therefore the revealed capacity of Q10 of inhibiting the first enzyme allows us to consider this coenzyme as a potential substance for drugs against Chagas disease.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, L-lactone-1,4-galactone dehydrogenase, 1,4 benzoquinone, coenzyme Q1, coenzyme Q10, electron acceptors, inhibitors